

URSZULA K. RAFALSKA, ANNA KAMIŃSKA-DWÓRZNICKA

WPLYW DODATKU WYBRANYCH BIOPOLIMERÓW NA PARAMETRY PROCESU ZAMRAŻANIA MODELOWEGO ROZTWORU SACHAROZY

Streszczenie

Celem pracy było porównanie wpływu dodatku κ -karagenu i jego hydrolizatów oraz białka typu AFP III, ograniczającego krystalizację lodu, na przebieg procesu zamrażania modelowych roztworów sacharozy.

Badaniom poddano próbki 30-procentowych roztworów sacharozy bez i z dodatkiem wymienionych substancji ochronnych, zamrożone w temperaturze $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ za pomocą kriostatu. Wykazano, że najdłużej zamrażały się próbki z dodatkiem białka AFP III. W porównaniu z próbkami bez dodatków wydłużeniu uległa faza ich domrażania, natomiast czas przemiany fazowej uległ skróceniu o 12 min. Próbki z dodatkiem hydrolizatów κ -karagenu zamrażały się krócej niż próbki z dodatkiem samego κ -karagenu. Czas ten był jednak identyczny jak podczas zamrażania próbek bez dodatku biopolimerów. Jednocześnie drugi etap, czyli czas domrażania próbek zawierających hydrolizaty, uległ wydłużeniu o 30 min w stosunku do czasu domrażania próbek bez dodatku biopolimerów oraz o 20 min w stosunku do próbek z dodatkiem karagenu. Dodatek hydrolizatów, podobnie jak dodatek samego κ -karagenu, wpłynął na skrócenie czasu przemiany fazowej o ok. 80 %. Każda z użytych substancji wpłynęła na podwyższenie temperatury krioskopowej o ponad $1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Słowa kluczowe: czas zamrażania, κ -karagen, hydrolizaty κ -karagenu, białko typu AFP III, temperatura krioskopowa, krzywe mrożenia

Wprowadzenie

Powszechną metodą utrwalania żywności jest zamrażanie, będące procesem obniżania temperatury produktu poniżej temperatury krioskopowej (początkowa temperatura przemiany fazowej wody w lód). Interpretacją graficzną tego procesu są tzw. krzywe

Mgr inż. U. K. Rafalska, Samodzielny Zakład Techniki w Żywieniu, Wydz. Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji, dr inż. A. Kamińska-Dwórznička, Katedra Inżynierii Żywności i Organizacji Produkcji, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa. Kontakt: urszula_ulanicka@sggw.pl

mrożenia, których kształt zależy nie tylko od wybranej metody zamrażania, ale także od właściwości zamrażanego produktu (skład chemiczny, kształt i wielkość cząsteczek). Na ich podstawie proces zamrażania można podzielić na trzy etapy: schładzanie, w trakcie którego dochodzi do przechłodzenia układu, właściwe zamrażanie, podczas którego powstają zarodki kryształów lodu oraz dalsze formowanie się struktury kryształów lodu zachodzące w czasie domrażania [9, 21].

Tworzenie się struktury krystalicznej spowodowane jest oddawaniem przez zamrażany układ dużej ilości energii (ok. 335,2 kJ/kg), w wyniku którego dochodzi do zminimalizowania ruchów molekularnych cząsteczek wody lub roztworu. Woda, zmieniając swój stan skupienia, tworzy kryształy w formie heksagonalnej, co jest charakterystyczne dla powolnego procesu zamrażania. Z kolei szybkie zamrażanie wpływa na tworzenie się kryształów o nieregularnym kształcie, np. dendrytów lub form kulistych [9, 23]. Z tworzeniem się kryształów lodu oraz przechowywaniem produktów mrożonych związane jest występowanie niekorzystnego dla jakości mrozonek zjawiska rekrytalizacji. Zachodzi ono w warunkach powodujących wahania temperatury, w wyniku których dochodzi do częściowego rozmrożenia i ponownego zamrożenia produktu. Powstająca w ten sposób frakcja wody przemieszcza się do istniejących kryształów lodu, powodując ich wzrost. Poprzez zmiany w strukturze zamrożonego produktu wpływa na pogorszenie jego cech sensorycznych [1, 11, 13, 18, 20, 25].

Sposobem na zmniejszenie skutków rekrytalizacji jest zastosowanie substancji ochronnych. Mechanizm ich działania opisują: hipoteza „lodowego moderatora” oraz „wody strukturalnej” Karrowa i Webba [16, 20]. Do substancji ochronnych należą hydrokoloidy polisacharydowe oraz białka typu AFP (ang. *Antifreeze proteins*). Karageny są substancjami wielkocząsteczkowymi pozyskiwanymi w procesie ekstrakcji z wodorostów. Związki te charakteryzują się właściwościami funkcjonalnymi, jak: rozpuszczalność w wodzie, zdolność żelowania oraz emulgowania i właściwości stabilizujące, które kształtują cechy reologiczne oraz teksturalne żywności [2, 3, 24]. AFP jest białkiem wyizolowanym ze skóry, surowicy krwi lub wątroby ryb arktycznych. Nietypowe źródło pochodzenia oraz sposób pozyskania jest przyczyną bardzo wysokiej ceny tej substancji. Wyróżniono cztery rodzaje nieglikoproteinowych białek AFP: I, II, III i IV [4, 5, 6, 9, 12, 22]. Białkiem zapobiegającym krystalizacji lodu jest AFP III. Związek ten charakteryzuje się bardzo małą masą cząsteczkową, lecz pomimo tego wykazuje działanie krioprotekcyjne przy bardzo małym stężeniu. Model hamowania wzrostu kryształów lodu, opisany przez Wena i Laursena [23], przebiega w dwóch etapach. Pierwszy obejmuje łączenie się cząsteczek AFP z powierzchnią powstających zarodków kryształów, wpływając tym samym na tworzenie się kryształów lodu jedynie w przestrzeniach ograniczonych przez cząsteczki AFP. Działanie takie w znaczący sposób przyczynia się do osłabienia struktury kryształów lodu i w konsekwencji do ich rozpadu. Kolejnym etapem blokowania wzrostu kryształów lodu jest izolacja przez

cząsteczki AFP cząsteczek wody od istniejących kryształów, co skutkuje dalszym uniemożliwianiem tworzenia się struktury krystalicznej [15, 23].

Celem pracy było porównanie wpływu dodatku κ -karagenu i produktów jego hydrolizy oraz białka ochronnego AFP III na przebieg krzywej mrożenia roztworu sacharozy w ustalonych warunkach.

Material i metody badań

Materiałem użytym do badań był 30-procentowy roztwór sacharozy, sporządzony na bazie krystalicznego cukru białego oraz wody destylowanej, bez lub z dodatkiem substancji ochronnych. Kontrolę stężenia roztworów wykonywano przy użyciu refraktometru Pocket Refractometer PAL-3 firmy Atago (Japonia). Roztwory sacharozy w ilości 400 ml zamrażano w aluminiowym, cylindrycznym pojemniku o średnicy 6 cm i wysokości 16 cm. Jako substancji ochronnych, tj. ograniczających nadmierny wzrost kryształów lodu, użyto κ -karagenu, (Fluka; Sigma-Aldrich; USA) w ilości $7,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ roztworu (KK), trzech rodzajów hydrolizatów κ -karagenu w ilości $7,5 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ roztworu oraz AFP III (Waltham; MA; USA) dodanego w ilości $0,156 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ roztworu. Karagen i jego pochodne były stosowane w tym samym stężeniu, które wynikało bezpośrednio ze sposobu przygotowania próbek hydrolizatów. Nie należy porównywać stężeń κ -karagenu i jego pochodnych (poli- i oligosacharydów) ze stężeniem białka ochronnego AFP, którego działanie przy takim właśnie stężeniu potwierdzono wcześniejszymi badaniami [15,16, 17].

Hydrolizę κ -karagenu prowadzono przy użyciu HCl lub H_2SO_4 przy $\text{pH} = 3,0$ i w temp. 60°C . Po upływie określonego czasu (H_2SO_4 – 1 i 1,5 h; HCl – 3 h) próbki neutralizowano za pomocą NaOH. Masę molową otrzymanych hydrolizatów wyznaczano przy użyciu chromatografii żelowej SEC (ang. *Size Exclusion Chromatography*). Masa molowa zdegradowanego κ -karagenu po 3-godzinnej hydrolizie kwasem solnym wyniosła $2,7\cdot 10^6\text{Da}$, a po 1- i 1,5-godzinnej hydrolizie kwasem siarkowym(VI) odpowiednio: $7,4\cdot 10^6$ oraz $3,2\cdot 10^6\text{Da}$. Wszystkie użyte odczynniki chemiczne pochodziły z firmy Chempur (Polska).

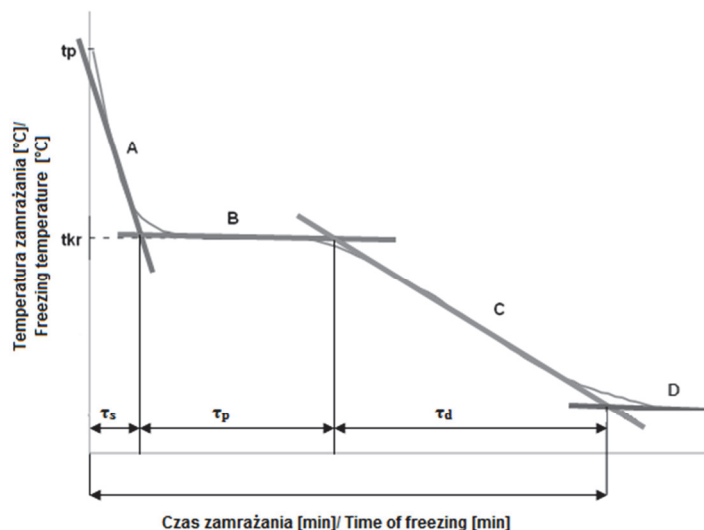
Odpowiednio przygotowane roztwory zamrażano w temp. -20°C przy użyciu kriogenicznego aparatu zamrażalniczego HUBER model CC 505 (Niemcy). Proces prowadzono do czasu uzyskania w środku geometrycznym próbek temp. -15°C . Temperaturę roztworów rejestrowano co 30 s przy użyciu wielokanałowego termometru cyfrowego (MPI-LAB; Metronic Instruments, Polska) wraz z termoparami firmy Czaki TP-201 (Czaki Termoproducts, Polska) podłączonego do komputera z programem rejestrującym LabVIEW firmy Metronic. Wszystkie pomiary wykonywano w trzech powtórzeniach.

Na podstawie zarejestrowanych zmian temperatury w czasie, w środku geometrycznym próbek, wyznaczano krzywe mrożenia każdego roztworu przy użyciu pro-

gramu Microsoft Office Excel 2007. Na wykresach przeprowadzono cztery linie styczne A, B, C i D do każdego prostoliniowego odcinka (rys. 1). Miejsca przecięcia stycznych, odczytane ze sporządzonych krzywych mrożenia, wyznaczały przybliżony początek i koniec poszczególnych etapów zamrażania. Ponadto od punktów przecięcia się stycznych prowadzono proste prostopadłe do osi odciętych i odczytywano czas trwania każdego z etapów zamrażania. Właściwy całkowity czas zamrażania obliczano z równania [8]:

$$\tau_c = \tau_s + \tau_p + \tau_d \quad (1)$$

gdzie: τ_c – właściwy całkowity czas zamrażania [min], τ_s – czas trwania schładzania [min], τ_p – czas trwania przemiany fazowej [min], τ_d – czas trwania etapu domrażania [min].



Objaśnienia: / Explanatory notes:

t_p – temperatura początkowa zamrażanego roztworu / initial temperature of frozen solution; t_{kr} – temperatura krioskopowa / cryoscopic temperature.

Rys. 1. Sposób wyznaczania poszczególnych czasów trwania etapów zamrażania oraz temperatury krioskopowej.

Fig. 1. Method to determine individual duration times of freezing stages and cryoscopic temperature.

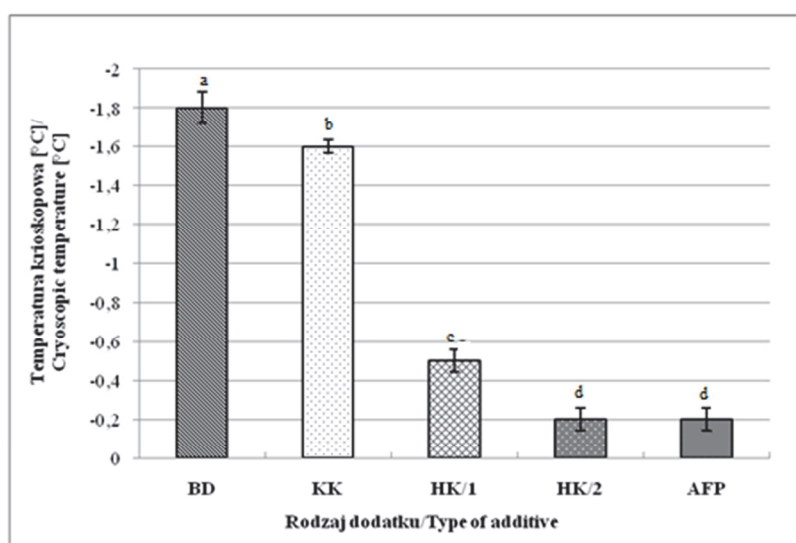
Punkt przecięcia stycznych A i B oraz poprowadzona od niego prosta prostopadła do osi rzędnych wyznaczała wartość temperatury krioskopowej zamrażanego roztworu [°C].

W celu określenia wpływu dodatku substancji krioprotekcyjnych na osiągnięte wartości temperatury krioskopowej, czas trwania poszczególnych etapów zamrażania

oraz całkowity czas zamrażania wykonano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA ($p \leq 0,01$) oraz analizę post-hoc z testem NIR Fishera ($p \leq 0,01$). Analizę statystyczną wykonano przy użyciu oprogramowania Statistica 10.0.

Wyniki i dyskusja

Stwierdzono, że dodatek substancji ochronnych do roztworów sacharozy wpłynął na podwyższenie ich temperatury krioskopowej o ok. 1 °C (rys. 2). Wśród próbek z dodatkiem substancji ochronnych najniższą temperaturą krioskopową, równą -1,6 °C,



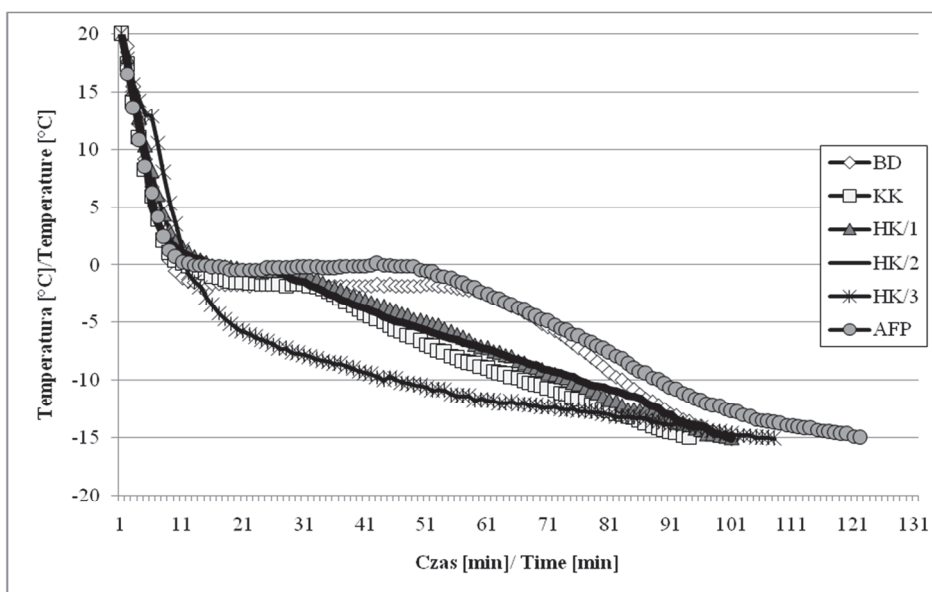
Objaśnienia: / Explanatory notes:

BD – roztwór sacharozy bez dodatku substancji kriochronnych / sucrose solution with no cryo-protective substances added; KK – roztwór sacharozy z dodatkiem κ -karagenu / sucrose solution with κ -carrageenan added; HK/1 – roztwór sacharozy z dodatkiem hydrolizatu otrzymanego po 3-godzinnej hydrolizie κ -karagenu kwasem solnym / sucrose solution with added hydrolysate obtained through 3-hr hydrolysis of κ -carrageenan using hydrochloric acid; HK/2 – roztwór sacharozy z dodatkiem hydrolizatu otrzymanego po 1-godzinnej hydrolizie κ -karagenu kwasem siarkowym(VI) / sucrose solution with added hydrolysate obtained through 1-hr hydrolysis of κ -carrageenan using sulphuric acid(VI); AFP – roztwór sacharozy z dodatkiem białka AFP III / sucrose solution with AFP III protein added; a-d – wartości średnie oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie na poziomie istotności $p \leq 0,01$ / a-d – mean values denoted using the same letter do not differ statistically significantly at $p \leq 0.01$.

Rys. 2. Zmiany temperatury krioskopowej [°C] 30-procentowych roztworów sacharozy w zależności od zastosowanego dodatku substancji kriochronnych.

Fig. 2. Changes in cryoscopic temperature [°C] of 30 % sucrose solutions depending on type of cryo-protective substances added.

charakteryzowały się roztwory z dodatkiem κ -karagenu (KK). Z kolei najwyższą temperaturę krioskopową osiągnęły roztwory z dodatkami AFP III i hydrolizatu κ -karagenu (HK/2), otrzymanego w wyniku godzinnej hydrolizy kwasem siarkowym (VI) ($-0,2\text{ }^{\circ}\text{C}$). Różnice średnich wartości temperatury krioskopowej tych dwóch roztworów były statystycznie nieistotne ($p \leq 0,01$). Zbliżoną wartością temperatury krioskopowej charakteryzowały się próbki roztworu sacharozy z dodatkiem hydrolizatu κ -karagenu (HK/1) otrzymanego w wyniku 3-godzinnej hydrolizy przy użyciu kwasu solnego ($-0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$). W przypadku dodatku hydrolizatu κ -karagenu otrzymanego w wyniku 1,5-godzinnej hydrolizy kwasem siarkowym(VI) (HK/3) przebieg krzywej mrożenia uniemożliwił wyznaczenie zarówno temperatury krioskopowej, jak i czasu trwania poszczególnych etapów zamrażania (rys. 3).



Objaśnienia: / Explanatory notes:

HK/3 – roztwór sacharozy z dodatkiem hydrolizatu otrzymanego po 1,5-godzinnej hydrolizie kwasem siarkowym(VI) / sucrose solution with hydrolysate / sucrose solution with added hydrolysates obtained after 1.5-hr hydrolysis using sulphuric acid (VI); Objasnienia pozostałych symboli próbek jak pod rys. 2 / Explanation of all other symbols for samples as in Fig. 2.

Rys. 3. Krzywe mrożenia modelowych 30-procentowych roztworów sacharozy bez i z dodatkiem substancji kriochronnych.

Fig. 3. Freezing curves of model 30 % sucrose solutions with and without cryo-protective substances added.

Prawdopodobnie w tych próbkach wszystkie trzy fazy zamrażania przebiegały równolegle, stąd też wynikało systematyczne obniżanie się temperatury bez widocznej

fazy właściwego zamrażania. W roztworach sacharozy z dodatkiem hydrolizatu κ -karagenu (HK/3) całkowity czas zamrażania nie różnił się znacząco od czasu zamrażania roztworu sacharozy bez dodatku substancji kriochronnych (BD) (tab. 1).

Tabela 1. Charakterystyka procesu zamrażania 30-procentowych roztworów sacharozy bez i z dodatkiem substancji kriochronnych.

Table 1. Process characteristics of freezing of 30% sucrose solution with and without cryo-protective substances added.

| Rodzaj dodatku Type of additive | Czasy trwania poszczególnych etapów zamrażania [min] Time of individual freezing stages [min] $\bar{x} \pm s / SD$ | | | |
|------------------------------------|--|--------------------------------------|--------------------------|------------------------------|
| | Schładzanie Cooling | Przemiana fazowa Phase transition | Domrażanie Refreezing | Całkowity czas Total time |
| | BD | 11,6 ^a ± 0,6 | 47,5 ^d ± 0,8 | 41,7 ^a ± 1,3 |
| KK | 16,9 ^c ± 1,5 | 10,5 ^a ± 2,7 | 88,9 ^d ± 4,7 | 116,3 ^c ± 0,5 |
| HK/1 | 16,1 ^c ± 0,01 | 15,3 ^b ± 0,6 | 70,0 ^b ± 2,1 | 101,4 ^a ± 2,5 |
| HK/2 | 16,2 ^c ± 0,6 | 11,6 ^a ± 0,6 | 73,6 ^c ± 2,5 | 101,4 ^a ± 2,9 |
| HK/3 | nd | nd | nd | 106,7 ^b ± ,5 |
| AFP | 12,7 ^b ± 1,9 | 36,0 ^c ± 0,6 | 72,0 ^c ± 2,0 | 120,7 ^d ± 0,6 |

Objaśnienia:/Explanatory notes:

Objaśnienia symboli dodatków jak pod rys. 2. i 3. / Explanation of symbols for additives as in Fig. 2 and 3;

$\bar{x} \pm s / SD$ – wartość średnia ± odchylenie standardowe / mean values ± standard deviation; n = 3; a-d – wartości średnie oznaczone różnymi literami są istotne statystycznie w kolumnach na poziomie istotności $p \leq 0,01$ / mean values denoted by different letter differ statistically significantly in columns at $p \leq 0.01$; nd – brak możliwości odczytania czasu trwania poszczególnych etapów zamrażania / it was impossible to read the duration time of individual freezing phases.

Analogiczne wyniki otrzymały Kamińska i Olejnik [16] po zamrożeniu soku jabłkowego i buraczanego z dodatkiem substancji ochronnych, takich jak: kwas L-askorbinowy, alkohol etylowy oraz glikoproteina AFGP. Autorki wykazały, że dodatek kwasu L-askorbinowego oraz alkoholu etylowego wpływa na podwyższenie temperatury krioskopowej soku jabłkowego, natomiast dodatek AFGP nie wpływa znacząco na zmianę tej temperatury. W przypadku zamrażania soku buraczanego dodatek kwasu askorbinowego oraz AFGP powoduje obniżenie temperatury krioskopowej. Kamińska i Ulanicka [18] badały roztwory sacharozy o różnym stężeniu z dodatkiem κ -karagenu, AFP oraz alginianu sodu i wykazały, że temperatura krioskopowa tych roztworów jest istotnie zależna od rodzaju oraz ilości użytego dodatku substancji ochronnej. Autorki

stwierdziły, że dodatek wymienionych substancji ochronnych powoduje w większości przypadków podwyższenie temperatury krioskopowej [16, 18].

W tab. 1. przedstawiono czas trwania poszczególnych etapów zamrażania wyznaczonych przy użyciu krzywych mrożenia przedstawionych na rys. 3. Najdłuższym całkowitym czasem zamrażania charakteryzowały się próbki z dodatkiem białka AFP III – ok. 121 min, zaś najkrótszym – próbki roztworów sacharozy bez dodatku substancji ochronnych oraz z dodatkiem κ -karagenu (KK) i jego hydrolizatów HK/1 i HK/2. Całkowity czas trwania zamrażania tych próbek wyniósł ok. 101 min. Co więcej, różnica pomiędzy próbkami osiągającymi najkrótszy czas zamrażania była statystycznie nieistotna ($p \leq 0,01$). Dowodzi to, że hydrolizaty otrzymane przy użyciu kwasu solnego (3-godzinna hydroliza) oraz kwasu siarkowego(VI) (1-godzinna hydroliza) nie miały wpływu na całkowity czas trwania procesu. Ponadto, wydłużenie czasu hydrolizy κ -karagenu nie spowodowało oczekiwanego rezultatu w postaci wydłużenia czasu zamrażania roztworów sacharozy. Znacznie lepszy efekt w tym zakresie uzyskano w przypadku dodatku hydrolizatu HK/3 ($p \leq 0,01$). Analiza czasu zamrażania 30-procentowego roztworu sacharozy z dodatkiem κ -karagenu bądź jego hydrolizatów pozwala stwierdzić, że w wyniku procesu hydrolizy nie otrzymuje się substancji ochronnych o działaniu znacząco wpływającym na wydłużenie czasu zamrażania.

Dodatek substancji kriochronnych wpłynął, we wszystkich roztworach, na wydłużenie czasu ich schładzania – o ok. 1 min w przypadku dodatku białka AFP III oraz o ok. 6 min w próbkach z dodatkiem κ -karagenu oraz jego hydrolizatów ($p \leq 0,01$). Analogiczną zależność (tj. wydłużenie czasu trwania analizowanej fazy) uzyskano w przypadku domrażania próbek. Z kolei czas trwania przemiany fazowej uległ skróceniu o ok. 30 min w próbkach z dodatkiem κ -karagenu i jego hydrolizatów. Najmniejsze skrócenie czasu trwania etapu przemiany fazowej osiągnięto w roztworach sacharozy z dodatkiem białka AFP III (ok. 12 min).

Odnosząc uzyskane wyniki do danych literaturowych można stwierdzić, że dodatek substancji ochronnych lub też zwiększanie stężenia zamrażanego roztworu wpływa na wydłużenie czasu schładzania, a także w większości przypadków na wydłużenie czasu przemiany fazowej oraz całkowitego czasu zamrażania [13, 16].

Wnioski

1. Dodatek substancji ochronnych (κ -karagenu i jego hydrolizatów oraz białka AFP III) wpłynął na podwyższenie temperatury krioskopowej o ok. 1 °C.
2. Dodatek substancji ochronnych wpłynął równocześnie na skrócenie czasu trwania etapu przemiany fazowej, odpowiednio o 30 i 12 min w przypadku κ -karagenu i jego hydrolizatów oraz białka AFP III.
3. Użyte w doświadczeniu substancje ochronne wpłynęły zarówno na wartości temperatury krioskopowej, jak i na całkowity czas trwania procesu zamrażania. Naj-

- dłuższym czasem zamrażania charakteryzowały się roztwory z dodatkiem białka AFP III (ok. 121 min), a najkrótszym – roztwory z dodatkiem hydrolizatu κ -karagenu HK/1 i HK/2 oraz roztwór bez dodatku substancji kriochronnych (ok. 101 min).
4. Całkowity czas zamrażania 30-procentowych roztworów sacharozy z dodatkiem hydrolizatów κ -karagenu (HK/1 i HK/2) był zbliżony do czasu zamrażania roztworów sacharozy bez dodatku substancji kriochronnych. Spośród zastosowanych hydrolizatów κ -karagenu najlepsze działanie miał hydrolizat HK/3, jednak jego wpływ był słabszy niż niezhydrolizowanego κ -karagenu. Dodatek substancji ochronnych (κ -karagenu lub AFP III) wpłynął na wydłużenie czasu trwania procesu zamrażania średnio o ok. 20 min.

Praca naukowa sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki na lata 2010 - 2014.

Literatura

- [1] Ablett S., Clarke Ch.J., Izzard M.J., Martin D.R.: Relationship between ice recrystallisation rates and the glass transition in frozen sugar solutions. *J. Sci. Food Agric.*, 2002, **82**, 1855-1859.
- [2] Borowski J., Borowska E.J.: Hydrokoloidy roślinne i mikrobiologiczne – technologiczne i żywieniowe aspekty ich stosowania. *Cz. I. Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2005, **1**, 23-26.
- [3] Borowski J., Borowska E.J.: Hydrokoloidy roślinne i mikrobiologiczne – technologiczne i żywieniowe aspekty ich stosowania. *Cz. II. Przem. Ferm. Owoc. Warz.*, 2005, **3**, 38-40.
- [4] Crevel R.W.R., Fedyk J.K., Spurgeon M.J.: Antifreeze proteins: characteristics, occurrence and human exposure. *Food Chem. Tox.*, 2002, **40**, 899-903.
- [5] Davies P.L., Sykes B.D.: Antifreeze proteins. *Curr. Opin. Struct. Biology*, 1997, **7**, 828-834.
- [6] Feeney R.E., Yeh Y.: Antifreeze proteins: Current status and possible food uses. *Trends. Food Sci. Technol.*, 1998, **9**, 102-106.
- [7] Griffith M., Ewart K.V.: Antifreeze proteins and their potential use in frozen foods. *Biotech. Adv.*, 1995, **13** (3), 375-402.
- [8] Griffith M., Yaish M.W.F.: Antifreeze proteins in overwintering plants: a tale of two activities. *Trends. Plant.Sci.*, 2004, **9** (8), 399-405.
- [9] Gruda Z., Postolski J.: Zamrażanie żywności. *Wyd. 3. WNT, Warszawa 1999*, ss. 73-137.
- [10] Hagiwara T., Hartel R.W., Matsukawa S.: Relationship between recrystallization rate of ice crystals in sugar solutions and water mobility In freeze-concentrated mix. *FOBI*, 2006, **1**, 74-82.
- [11] Harding M.M., Ward L.G., Haymet A.D.: Type I “Antifreeze” proteins. Structure-activity studies and mechanisms of ice growth inhibition. *Eur. J. Biochem.*, 1999, **264**, 653-665.
- [12] Hassas-Roudsari M., Goff H.D.: Ice structuring proteins from plants: Mechanism of action and food application. *Food Res. Int.*, 2012, **46**, 425-436.
- [13] Janiszewska E., Sakowski P.: Wpływ stopnia zagęszczenia soku marchwiowego oraz metody zamrażania na parametry procesu zamrażania. *Zesz. Probl. Postępów Nauk Rol.*, 2012, **571**, 49-58.
- [14] Kamińska A., Lewicki P.P.: Metoda dehydrofreezing (D-F) – znaczenie i przyszłość. *Przem. Spoż.*, 2005, **9** (54), 12-15.
- [15] Kamińska A., Lewicki P.P.: Metody ograniczania krystalizacji lodu w procesie zamrażania. *Przem. Spoż.*, 2008, **9** (62), 24-28.

- [16] Kamińska A., Olejnik B.H.: Wpływ dodatku substancji ochronnych na przebieg procesu zamrażania soków owocowych i warzywnych. *Zesz. Probl. Postępów Nauk Rol.*, 2010, **553**, 129-137.
- [17] Kamińska A., Gaükel V.: Kontrola wzrostu kryształów w lodach spożywczych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **1 (62)**, 57-64.
- [18] Kamińska-Dwórznicza A., Ulanicka U.K.: Badanie udziału wody wymrożonej i niewymrożonej po zamrożeniu roztworów modelowych sacharozy bez dodatku i z dodatkiem substancji ochronnych. *Zesz. Probl. Postępów Nauk Rol.*, 2012, **571**, 59-66.
- [19] Kozłowicz K., Kluza F.: Wpływ dodatków napojów alkoholowych na proces zamrażania sorbetów owocowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2009, **1 (62)**, 65-72.
- [20] Kozłowicz K.: Charakterystyka wykorzystania wybranych substancji kriochronnych w zamrażaniu i przechowywaniu żywności. *Acta Sci. Pol.*, 2012, **11 (3-4)**, 13-24.
- [21] Lillford P.J., Holt C.B.: Antifreeze proteins. *J. Food Eng.*, 1994, **22**, 475-482.
- [22] Petzold G., Aguilera J.M.: Ice morphology: Fundamentals and technological application in food. *Food Biophys.*, 2009, **4 (4)**, 378-396.
- [23] Wen D., Laursen R.A.: A model for binding of an antifreeze polypeptide to ice. *Biophys. J.*, 1992, **63**, 1659-1662.
- [24] Zięć G., Gambuś H., Kowalski S., Achrem-Achremowicz B.: Wybrane właściwości fizyczne mąki owsianej oraz jej interakcje z hydrokoloidami w porównaniu z mąkami chlebowymi. *Acta Agrophysica*, 2011, **17 (2)**, 433-447.
- [25] Grabowski T., Kijowski J.: *Żywność. Jakość. Technologia – Mięso i przetwory drobiowe – technologia, higiena, jakość*. WNT, Warszawa 2004, ss. 427-432.

EFFECT OF ADDING SELECTED BIOPOLYMERS ON FREEZING PARAMETERS OF MODEL SUCROSE SOLUTION

S u m m a r y

The objective of the research study was to compare the effect of adding a kappa carrageenan and its hydrolysates, and a protein type AFP III, which limits the ice crystallization, on the freezing process of model sucrose solutions.

There were studied samples of 30 % sucrose solutions without and with those cryo-protective substances added; the samples were frozen at -20 °C using a cryostat. It was proved that the freezing time of the samples with AFP protein added was the longest. Compared to the samples with no additives, the refreezing phase thereof was extended, whereas the time duration of the transition phase was shorter by 12 minutes. The samples with the hydrolyzed kappa carrageenan added got frozen quicker than the samples containing only the kappa carrageenan. On the other hand, that time was similar to the time of freezing the samples without the biopolymers added. At the same time, the second phase, i.e. the time of refreezing the samples with the hydrolysates was extended by 30 minutes compared to the time of refreezing the samples without the polymers added, and it was by 20 minutes longer than the refreezing time of the samples with the carrageenan added. The addition of the hydrolysates and of the kappa carrageenan reduced the time of the transition phase by about 80 %. Each of the substances used caused the cryoscopic temperature to increase by more than 1 °C.

Key words: freezing time, kappa carrageenan, hydrolysates of kappa carrageenan, protein type AFP III, cryoscopic temperature, freezing curves 